編號：CCMP89-RD-031

# 補益劑對高血糖鼠學習記憶能力之影響及機制探討

# Studies on the action mechanism of the ameliorating effects of Pu-I prescriptions on memory dysfunction in streptozotocin-induced diabetics mellitus rats

謝 明 村

中國醫藥學院　中國藥學研究所

## 摘要

補益類方劑連續口服兩週後，均具增強大鼠於被動迴避反應及主動迴避學習反應之操作能力；惟六味地黃丸、補中益氣湯及天王補心丹效果較佳。其次，靜脈注射 streptozotocin 後 3 週，可增加大鼠之進食量、飲水量及排泄量，並使體重變輕、血糖升高；並可誘發主動迴避反應之迴避次數減少及逃避次數增加。當補益類方劑於 streptozotocin 誘發糖尿病前連續口服兩週後或於 streptozotocin 誘發糖尿病一週後連續口服兩週後，均可增加糖尿病鼠於主動迴避反應之迴避次數減少及逃避次數；其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。顯示六味地黃丸及補中益氣湯具防治 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠於主動迴避反應操作能力障礙之作用。

在口服葡萄糖耐受性試驗及學習前後血醣變化測定中，補益類方劑連續口服兩週後，對正常大鼠及 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠，以六味地

黃丸之降血醣及增加 insulin 分泌效果最佳；在學習前後，六味地黃丸及知柏地黃丸於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，可降低正常大鼠之血糖濃度；但明顯增加訓練後之血糖濃度。而補中益氣湯於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，則可增加大鼠之血糖濃度及訓練後之血糖濃度。

綜合上述結果，六味地黃丸及知柏地黃丸可增強正常大鼠之學習操作能力及改善 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠之學習操作能力障礙，此作用於降低血糖濃度；增加學習過程之血糖使用有關。而補中益氣湯等增強正常大鼠之學習操作能力，則部分與增加學習過程之血糖使用有關。

關鍵詞：補益劑、學習記憶、被動迴避反應、主動迴避反應

# ABSTRACT

"Pu-I prescriptions" after two-week administration facilitated the passive avoidance and active avoidance performance, Liu-Wei-Di-Huang-Wan, Pu-Chung-I-Chi-Tang and Tien-Wang -Pu- Hsin-Dang were better than the others. Three weeks after intravenous administration of streptozotocin, it decreased total escape scores and enhanced total avoidance scores in the active avoidance response. Pu-I prescriptions, administered two weeks before or one week after intravenous administration of streptozotocin, enhanced total escape scores and decreased total avoidance scores in the active avoidance response. Liu-Wei-Di-Huang-Wan and Pu-Chung-I-Chi-Tang were better than the others.

Pu-I prescriptions especially Liu-Wei-Di-Huang-Wan decreased the plasma glucose levels and increased the insulin levels in the

oral glucose tolerance test. Liu-Wei-Di-Huang-Wan also decreased the plasma glucose levels of the normal and streptozotocin-induced DM rats and increased the plasma glucose levels after the training trial. However, Pu-Chung-I-Chi-Tang increased the plasma glucose levels of normal rats and the plasma glucose levels after the training trial.

From these above data, Liu-Wei-Di-Huang-Wan and Pu-Chung-I-Chi-Tang facilitated the passive and active avoidance performance in normal rats and prevented the performance impairment in streptozotocin-induced DM rats. The action mechanism of Liu- Wei-Di-Huang-Wan and Pu-Chung-I-Chi-Tang were partially related to increased insulin secretion and promoting the glucose utility.

Key words: Pu-I prescriptions, Learning and memory, inhibitory avoidance response, Active avoidance response

## 壹、前言

現今社會已逐步邁入老年化，使老年人口比率日增；老年痴呆症是一種廣泛性腦機能障礙，對人的記憶、行為和情緒均有影響；已知初期癡呆症患者之臨床主要徵候為學習記憶之能力逐漸減退，特別是近期記憶喪失及剛學習之事物無法記得。有報告指出，65 歲以上，每 20 人中有 1 人；80 歲以上，每 5 人中有 1 人會被老年痴呆症所困擾。而老年痴呆症之病因甚多，如：Alzheimer's disease、Hungiton's disease、Parkinson's disease 及糖尿病…等等；已知之致病因子及腦內代謝變化，包括：腦血循降低、葡萄糖代謝失常及蛋白質變性，進一步形成 glycated protein[1-2]，形成癡呆症患者之三大組織病理特徵：神經元纖維纏結、老年斑及顆粒性小體[3]

。近幾年研究發現，糖尿病患者之葡萄糖代謝失常，會導致體內糖化終端產物增加，並造成記憶能力及學習操作障礙之現象[4]；而在動物之研究上，亦發現實驗動物給予 streptozotocin 可造成記憶能力及學習操作障礙之現象[5-6]，且其作用可被膽鹼類作用劑及 insulin 所改善[7-8]。

智能障礙之疾病在今日社會裡日漸廣泛，而也帶來社會高潛在的危險性，因而驅使近代醫藥學家的重視及致力於開發智能增強劑。現今已開發之智能增強劑，大致可分成 nootropics、vasodilators 及 metabolic enhancers、psychostimulants、cholinergic agents、biogenic amines drugs 及 neuropeptides 等七類[9]。在今之研究，認為智能增強劑之增強學習記憶作用，可能經由影響腎上腺之機能，使體內之 glucose 使用率增加，腦內血醣濃度增加，因而增加腦內能量之供給，活化腦內神經系統[10]。在神經內分泌與傳遞物質研究上，亦指出 glucose 在通過腦血管障壁後，可使腦內血醣濃度增加，增加腦內能量供給及神經傳遞物質合成如 hippocampus 區之 acetylcholine，活化腦內神經系統[11]；但在臨床及動物研究上，均發現糖尿病患者或實驗動物給予 streptozotocin 可造成記憶能力及學習操作障礙之現象[4, 5-8]。因此血糖之多寡應與學習記憶之能力有密切之關聯性。

在記憶鞏固方面，蛋白質合成為必需之因素，因此蛋白質合成抑制劑如 cycloheximide、anisomycin、puromycin 等均能造成記憶鞏固損害之現象；cycloheximide 主要經由阻斷 mRNA 之轉錄，約可抑制 80%之蛋白質合成，以造成記憶鞏固之障礙[12]。因此本研究採用 cycloheximide 為記憶鞏固障礙之誘發劑。而在高血糖與記憶障礙之動物研究上，發現給予 streptozotocin 可誘發大鼠產生高血糖，並可造成大鼠記憶能力及學習操作障礙之現象[5-8]。

中醫學之衰老理論，主在「腎虛」、「脾虛」及「氣血兩虛」；在老年癡

呆症之用藥中，亦以益腎溫陽、滋陰補血及健脾益氣等方劑之使用率最頻繁[13]。而在著者及其他研究報告近幾年內針對中藥方劑在記憶增強作用所進行之研究，發現補氣類方劑補中益氣湯[14]、補血類方劑歸脾湯[15-17]、補陰類方劑天王補心丹[18]及補腎類方劑六味地黃丸（88 年度進行中之衛生署專題計畫）均可改善正常大鼠因藥物所造成之學習記憶障礙；另著者研究報告亦指出知柏八味丸具降血糖作用[19-20]。因此，本研究擬將上述方劑進行水抽取後，以被動迴避學習反應來探討對正常大鼠因 cycloheximide 所誘發學習記憶障礙之預防或治療作用及對 streptozotocin 誘發高血糖鼠所誘發學習記憶障礙之預防或治療作用。其次，並進行上述方劑水抽取物對正常大鼠及 streptozotocin 誘發高血糖鼠葡萄糖耐受性、學習前後血漿及胰臟中 glucose 及 insulin 濃度之變化。

# 貳、材料與方法

## 一、實驗動物

本實驗動物採用 Sprague-Dawley 雄性大鼠（體重約 200～250 g），飼養在空調的房間，溫度維持在 23± 1℃，燈光控制採 12 小時亮 12 小時暗（08:00 燈亮、20:00 燈暗），食物與水不予限制。

## 二、實驗藥材

本實驗所用 5 組補益劑之組成藥材及比例如下：

1. 補中益氣湯（脾胃論）

黃　耆：豆科植物黃耆*Astragalus membranaceus*（FISCH.） BGE 的乾燥根。

人　參：五加科植物人參*Panax ginseng* C.A. MEYER的乾燥根。

白　朮：菊科植物白朮*Atractylodes macrocephala* KOIDZ. 的乾燥根莖。

當　歸：繖形科植物當歸 *Angelica sinensis*（OLIV.）DIELS. 的乾燥塊根。

甘　草：豆科植物甘草*Glycyrrhiza ulensis* FISCHER et Dc. 的乾燥根及根莖。

陳　皮：芸香科植物橘*Citrus reticulata* BLANCO. 的乾燥成熟果皮。

升　麻：毛茛科植物大三葉升麻*Cimicifuga heracleifolia* KOM. 的乾燥根莖。

柴　胡：繖形科植物柴胡*Bupleurum chinense* DC. 的乾燥根。

黃耆：人參：白朮：炙甘草：當歸：陳皮：升麻：柴胡=15：6：10：6：10：6：3：3

2. 歸脾湯（校註婦人良方）

白　朮：菊科植物白朮*Atractylodes macrocephala* KOIDZ. 的乾燥根莖。

黃　耆：豆科植物黃耆*Astragalus membranaceus*（FISCH.） BGE 的乾燥根。

茯　神：多孔菌科植物茯苓菌*Poria cocos*（SCHW.）WOLF. 的乾燥菌核。

龍眼肉：無患子科植物龍眼*Euphoria longan*（Lour.）STEUD. 的乾燥成熟果實。酸棗仁：鼠李科植物酸棗*Zizyphus spinosis* Hu的乾燥成熟種子。

人　參：五加科植物人參*Panax ginseng* C. A. MEYER的乾燥根。

木　香：菊科植物廣木香*Sauaaurea lappa* CLARKE的乾燥根。

甘　草：豆科植物甘草*Glycyrrhiza ulensis* FISCHER et Dc.的乾燥根及根莖。

當　歸：繖形科植物當歸*Angelica sinensis*（OLIV.）DIELS.的乾燥塊根。

遠　志：遠志科植物細葉遠志*Polygala tenuifolia* WILLD.的乾燥根。

白朮：黃耆：茯神：龍眼肉：酸棗仁：人參：木香：炙甘草：當歸：炙遠志=3：5：4：3：5：3：2：2：3：2

3.天王補心丹（攝生秘剖）

人　參：五加科植物人參*Panax ginseng* C.A. MEYER的乾燥根。

生　地：玄參科植物地黃*Rehmannia glutinosa*（GAERTN.）LIBOSCH.的乾燥塊根。

玄　參：玄參科植物玄參*Schrophularia ningpoensis* HEMSL.的乾燥根。

麥門冬：百合科植物沿階草*Ophiopogon japonicus*（THUNB.）KER-GAW.的乾燥塊根。

天門冬：百合科植物天門冬*Astragalus cochinchinensis*（LOUR.）MERR.的乾燥塊根。

當　歸：繖形科植物當歸*Angelica sinensis*（OLIV.）DIELS.的乾燥塊根。

酸棗仁：鼠李科植物酸棗*Zizyphus spinosis* Hu的乾燥成熟種子。

柏子仁：柏科植物側柏*Biota orientalis* ENDL.的乾燥成熟種子。

丹　參：唇形科植物丹參*Salvia miotiorrhiza* Bge.的乾燥塊根。

茯　苓：多孔菌科植物茯苓菌*Poria cocos*（SCHW.）WOLF.的乾燥菌核。

遠　志：遠志科植物細葉遠志 *Polygala tenuifolia* WILLD. 的乾燥根。

五味子：木蘭科植物北五味子 *Schizandra chinensis* BAILL. 的乾燥成熟果實。

桔 梗：桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum*（JACQ.）A. DC. 的乾燥根。

生地：麥冬：天冬：當歸：五味子：柏子仁：酸棗仁：人參：丹參：玄參：白茯苓：遠志：桔梗=8：2：2：2：2：2：2：1：1：1：1：1：1。

4. 六味地黃丸（小兒藥證直訣）

熟 地：玄參科植物地黃 *Rehmannia glutinosa*（GAERTN.）LIBOSCH. 的乾燥塊根。

澤　瀉：澤瀉科植物澤瀉 *Alisma orientalis*（SAM.）JUZEP. 的乾燥塊莖。

茯　苓：多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos*（SCHW.）WOLF 的乾燥菌核。

山茱萸：山茱萸科多年生植物山茱萸 *Cornus officinalis* SIEB. et ZUCC. 的乾燥成熟果肉。

山　藥；薯蕷科多年生植物薯蕷 *Dioscorea opposita* THUNB. 的乾燥根莖。

丹　皮：毛艮科多年生植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* ANDR. 的乾燥根皮。

熟地黃：澤瀉：茯苓：山茱萸：山藥：丹皮8：3：3：4：4：3

5. 知柏八味丸

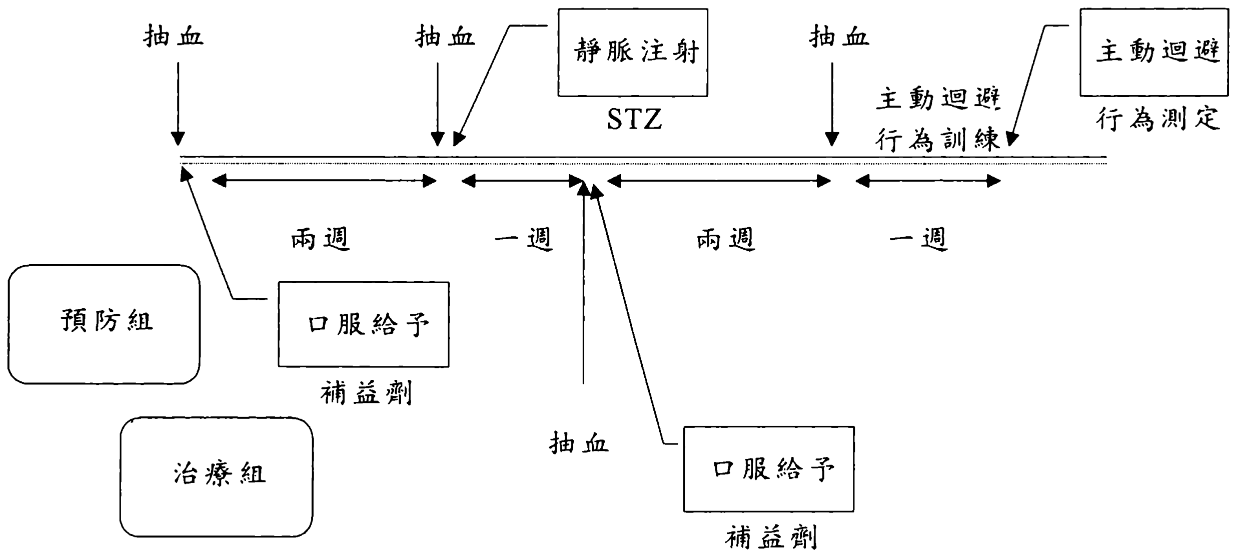
基原同上

知　母：百合科植物知母*Anemarrhena asphodeloides*的根莖。

黃　柏：芸香科植物黃柏*Phellodendron amurense*的樹皮。

熟地黃：澤瀉：茯苓：山茱萸：山藥：丹皮：知母：黃柏=8：3：3：4：4：3：3：3

將5組補益劑依上述之中醫方劑組成藥材及比例組合後，以水浸潤之，後在50℃下迴流抽取四～五次，每次約四小時，合併抽取液，經減壓濃縮乾燥後，即得5組補益劑水粗取物。




圖一、實驗設計流程

## 三、實驗方法

1. 被動迴避學習反應

本實驗是使用「被動迴避學習（passive avoidance）反應測定裝置」（Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan），此裝置分成兩部份：實驗箱（Shuttle Box）係為一經中間閘門分隔為相同大小二室（48 × 20× 30cm）的箱子及其控制器（MCU -101 Controller，Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan）；在實驗裝置處置上，於相同大小二室之

其中一室上方置一20W之電燈泡，將相同大小二室區分為明暗二室，中以門閘控制；而於實驗步驟上，先將大鼠置入明室，同時開啟閘門，以大鼠在90秒內進入暗室者，供做本實驗。

被動迴避學習訓練期：將篩選過之大鼠，置入明室，同時開啟閘門，待大鼠進入暗室後，關閉閘門，同時於底板通以電流（1 mA，2sec），待電刺激後5秒，自暗室取出大鼠，歸回飼養籠。

被動迴避學習測定期：於訓練後24小時，再將大鼠置入明室，同時並開啟閘門，記錄大鼠在明室之滯留時間（step-through latency，STL）。當於明室之滯留時間大於5分鐘（300秒）時，則稱大鼠之學習記憶能力正常[14]。

2.補益劑水粗取物對藥物誘發正常大鼠被動迴避學習反應障礙物質之影響

預防組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）經兩週給藥之最後一次給藥後 60 分鐘進行訓練

與下述之誘發學習障礙物質併用，依前法（方法三之1），記錄大鼠在明室之滯留時間。病理對照組給予下述之誘發學習記憶障礙物質。而空白對照組則給予saline。誘發記憶鞏固障礙：scopolamine（1 mg/kg，i.p.）訓練前30分鐘給藥[12]。

3.補益劑水粗取物對 streptozotocin 誘發高血糖鼠被動迴避學習反應障礙之影響

大鼠先以streptozotocin（60 mg/kg，i.v.）處理3週後以誘發高血糖，再進行行為評估，並進行病理及治療評估[8]。

預防組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）經兩週給藥之最後一次給藥後60分鐘進行streptozotocin誘發高血糖

治療組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）於streptozotocin誘發高血糖3週後，連續給藥兩週後之最後一次給藥後60分鐘進行訓練

依前法（方法三之1），記錄大鼠在明室之滯留時間。病理對照組給予streptozotocin（60 mg/kg，i.v.）。而空白對照組則給予saline。

4.主動迴避學習反應

本實驗使用之實驗儀器為「被動暨主動迴避學習（passive and active avoidance）反應測定裝置」【Automatic Reflex Conditioner 7530（PACS-30，Passive/avoidance computerized system，Columbus）】。

先將大鼠置於左室適應30秒鐘後，連續訓練20次，每次先給聲光 3秒鐘，後電擊（0.8 mA）3秒，每次訓練間隔 15秒。連續訓練5天，待七天後進行測定。當大鼠於聲光出現後而電擊未出現前即逃往另一室，稱為迴避（avoidance）行為；而若大鼠於電擊出現後始逃往另一室，則稱為逃避（escape）行為。觀察並記錄大鼠每天20次訓練之總迴避次數及總逃避次數。

大鼠先以streptozotocin（60 mg/kg，i.v.）處理3週後以誘發高血糖，再進行行為評估，並進行病理及治療評估[8]。

預防組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）經兩週給藥之最後一次給藥後60分鐘進行streptozotocin誘發高血糖

治療組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）於streptozotocin誘發高血糖3週後，連續給藥兩週後之最後一次給藥後60分鐘進行訓練

5.補益劑（最有效組）水粗取物對正常大鼠及高血糖鼠葡萄糖耐受性之影響

預防組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）經兩週給藥之最後一次給藥後60分鐘進行streptozotocin誘發高血糖

治療組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）於streptozotocin誘發高血糖3週後，連續給藥兩週後之最後一次給藥後60分鐘進行訓練

大鼠（正常大鼠及高血糖鼠）於誘發高血糖前，記錄體重及血糖後；於預防組給藥前，記錄體重及血糖。預防組給藥兩週後，記錄體重及血糖；60分鐘後，口服給予2 g/kg葡萄糖，並於30、60、90、120分鐘後抽取血液，用以測定血醣含量[24]。治療組給藥兩週後，記錄體重及血糖；葡萄糖耐受性試驗同上。

6.補益劑（最有效組）水粗取物對正常大鼠及高血糖鼠血漿中glucose及insulin含量之影響

預防組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）經兩週給藥之最後一次給藥後60分鐘進行streptozotocin誘發高血糖

治療組：補益劑水粗取物（0.5 g/kg）於streptozotocin誘發高血糖3週後，連續給藥兩週後之最後一次給藥後60分鐘進行訓練

正常大鼠及高血糖鼠經口服給予補益劑水粗取物，依前法（方法3），將大鼠放入實驗箱中，待正常大鼠及高血糖鼠進入暗室後，通以電流（2.0 mA，2sec），待電刺激後5秒，自暗室取出正常大鼠及高血糖鼠。於10分鐘後，大鼠以ethyl ether麻醉後，經動脈取血2.0 ml後，將血液分置於2隻試管中，其中一隻試管用以測定血醣含

量，加入heparin（50 IU/tube），靜置30min後，放入離心機中離心（3000 rpm，10 min，4℃），取25 μl之血漿，以血醣快速分析儀（YSI Model 23A，Glucose Analyser，USA）測定正常大鼠及高血糖鼠血醣含量[25]。另一隻試管用以測定血漿中insulin含量，加入heparin（30 IU/tube）及aprotinine（500 KIU/ml），insulin之測定以大鼠insulin為標準，採RIA法測定之[26]。

7. 統計分析

本實驗被動迴避學習反應所得之數據，均以 non-parametric methods（Mann-Whiteny *U*-test），各組間以Kruskal-Wallis non-parametric one way analysis，統計並分析其間差異之顯著性，凡 P值小於0.05以下時，則認為有統計意義。葡萄糖耐受性及學習前後之血醣及insulin濃度測定所得之數據，均以 one-way ANOVA analysis 進行統計，並以Scheff's test 分析其間差異之顯著性，凡 P值小於0.05以下時，則認為有統計意義。

# 參、結果

## 一、補益類方劑抽取率

補益類方劑以水進行抽取之抽取率分別為六味地黃丸：13.5%、知柏地黃丸：15%、補中益氣湯：23.6%、加味歸脾湯：16.8%、天王補心丹：20.2%。

## 二、補益劑水粗取物對藥物誘發正常大鼠被動迴避學習反應障礙物質之影響

如表一所示，scopolamine於訓練前30分鐘給予，可縮短大鼠於被動迴避儀明室之滯留時間；當補益類方劑於0.1、0.5 g/kg連續口服兩

週後，可延長大鼠於被動迴避儀明室之滯留時間。其中以六味地黃丸、天王補心丹及補中益氣湯之效果較佳。

三、補益劑水粗取物對正常大鼠主動迴避學習之影響

如圖八所示，當補益類方劑於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，於對照組相較，可增加大鼠之迴避次數並減少大鼠之逃避次數；其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。

## 四、補益劑水粗取物對 streptozotocin 誘發糖尿病鼠主動迴避學習反障礙之影響

靜脈注射 streptozotocin 後 2~4 週，可增加大鼠之進食量、飲水量及排泄量，並使體重變輕、血糖升高。經給予 streptozotocin 誘發糖尿病（3 週）之大鼠，於被動迴避反應誘導操作能力障礙之成功率較低，而於主動迴避反應誘導操作能力障礙之成功率較高。因此，本實驗以主動迴避學習

反應評估方劑對 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠於主動迴避反應誘導操作能力障礙之預防及治療作用。

如圖九所示，給予 streptozotocin 誘發糖尿病（3 週）之大鼠，可造成大鼠在主動迴避操作上迴避次數之減少及逃避次數之增加。當補益類方劑（0.5 g/kg）於 streptozotocin 誘發糖尿病前連續口服兩週後，與 streptozotocin 誘發糖尿病相較，可明顯增加大鼠在主動迴避操作上迴避次數之增加及逃避次數之減少。其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。如圖十所示，另當補益類方劑（0.5 g/kg）於 streptozotocin 誘發糖尿病一週後連續口服兩週後，與 streptozotocin 誘發糖尿病相較，亦可明顯增加大鼠在主動迴避操作上迴避次數之增加及逃避次數之減少。其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。

## 五、補益劑水粗取物對藥物誘發正常大鼠葡萄糖耐受性之影響

如圖二及圖三所示，當補益類方劑於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，惟六味地黃丸可降低大鼠在口服給予葡萄糖後 90 至 120 分鐘之血醣濃度並增加其 insulin 之分泌。

## 六、補益劑水粗取物對 streptozotocin 誘發糖尿病鼠葡萄糖耐受性之影響

如圖四及圖五所示，當補益類方劑於 0.5 g/kg 於 streptozotocin 誘發糖尿病前連續口服兩週後，與 streptozotocin 誘發糖尿病相較，惟六味地黃丸可降低大鼠在口服給予葡萄糖後 90 至 120 分鐘之血醣濃度並增加其 insulin 之分泌。如圖六及圖七所示，當補益類方劑於 0.5 g/kg 於 streptozotocin 誘發糖尿病一週後連續口服兩週後，與 streptozotocin 誘發糖尿病相較，惟六味地黃丸可降低大鼠在口服給予葡萄糖後 90 至 120 分鐘之血醣濃度並增加其 insulin 之分泌。

## 七、補益劑水粗取物對正常大鼠學習前後及對 streptozotocin 誘發糖尿病鼠前後血醣暨 insulin 變化之影響

如表二所示，補益類方劑於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，對正常大鼠之血醣變化，六味地黃丸及知柏地黃丸可降低其給藥前後之血醣濃度，而補中益氣湯則可增加其給藥前後之血醣濃度。Streptozotocin 給藥 3 週後可明顯升高大鼠之血醣濃度，但當補益類方劑於 0.5 g/kg 於 streptozotocin 誘發糖尿病前連續口服兩週後，惟六味地黃丸及知柏地黃丸可降低 streptozotocin 誘發之血醣濃度升高現象；而當補益類方劑於 0.5 g/kg 於 streptozotocin 誘發糖尿病一週後連續口服兩週後，亦僅六味地黃丸及知柏地黃丸可降低 streptozotocin 誘發之血醣濃度升高現象。

補益類方劑於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，對正常大鼠學習前後之血醣

變化，六味地黃丸、知柏地黃丸及補中益氣湯均可明顯增加訓練後之血糖濃度。

## 肆、討論

中醫學之衰老理論，主在「腎虛」、「脾虛」及「氣血兩虛」；在老年癡呆症之用藥中，亦以益腎溫陽、滋陰補血及健脾益氣等方劑之使用率最頻繁[13]。而在著者及其他研究報告近幾年內針對中藥方劑在記憶增強作用所進行之研究，發現補氣類方劑補中益氣湯[14]、補血類方劑歸脾湯[15-17]、補陰類方劑天王補心丹[18]及補腎類方劑六味地黃丸（88 年度進行中之衛生署專題計畫）均可改善正常大鼠因藥物所造成之學習記憶障礙；另著者研究報告亦指出知柏八味丸具降血糖作用[19-20]。因此本實驗針對上述補益類方劑對正常大鼠及streptozotocin 誘發糖尿病鼠進行被動暨主動迴避學習操作及記憶能力評估。

首先，補益類方劑於 0.1、0.5 g/kg 連續口服兩週後，均具增強大鼠於低刺激（0.8 mA、1 sec）下被動迴避反應之操作能力；另對 scopolamine 誘發大鼠於強刺激（1 mA、2 sec）下被動迴避反應學習操作障礙之作用，亦具改善之作用。其中以六味地黃丸、天王補心丹及補中益氣湯之效果較佳。而於主動迴避學習反應中，補益類方劑於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，可增加大鼠於訓練期及測定期之迴避次數，並減少其逃避次數；其中亦以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。因此，此結果與本研究室先前針對上述補益類方劑改善藥物誘發學習記憶障礙所做之研究成果相同，確知補益類方劑具增強正常大鼠於被動暨主動迴避學習反應之操作能力，並可改善 scopolamine 誘發之學習獲得障礙；其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。總而言之，在衛生署經費連續數年經費補助下，從事一系列補益類方劑對於學習記憶之影響：歸脾湯針對記憶鞏固之作用較佳，適用於

各種原因之癡呆症，特別是血循環不良而致之記憶鞏固不佳者[26]；補中益氣湯針對學習獲得之作用較佳，適用於阿耳滋海默氏症，特別是胃腸吸收不良而致之虛弱、注憶力差、學習能力不佳者[27]；天王補心丹則對學習獲得障礙及記憶鞏固均佳[28]；而六味地黃丸主要適用於體虛、腎虛而致之記憶鞏固不佳，但對學習能力不佳者亦有效。

其次，針對補益類方劑在 streptozotocin 誘發糖尿病鼠於被動暨主動迴避學習操作作用之評估。靜脈注射 streptozotocin（60 mg/kg，i.v.）後 2~4 週，可增加大鼠之進食量、飲水量及排泄量，並使體重變輕、血糖升高。大鼠經靜脈注射給予 streptozotocin（3 週）誘發糖尿病，於被動迴避反應誘導操作能力障礙之成功率較低；但於主動迴避反應操作中，則可造成糖尿病鼠之迴避次數減少及逃避次數增加。因此本實驗以主動迴避學習反應評估補益類方劑對 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠於主動迴避反應誘導操作能力障礙之預防及治療作用。當補益類方劑（0.5 g/kg）於 streptozotocin 誘發糖尿病前連續口服兩週後，均可增加糖尿病鼠於主動迴避反應之迴避次數減少及逃避次數；其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。顯示六味地黃丸及補中益氣湯於 streptozotocin 誘發糖尿病前給藥具預防 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠於主動迴避反應操作能力障礙之作用。另補益類方劑（0.5 g/kg）於 streptozotocin 誘發糖尿病一週後連續口服兩週後，亦可增加糖尿病鼠於主動迴避反應之迴避次數減少及逃避次數；其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。顯示六味地黃丸及補中益氣湯於 streptozotocin 誘發糖尿病一週後給藥具治療 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠於主動迴避反應操作能力障礙之作用。

最後，補益類方劑（0.5 g/kg）連續口服兩週後，對正常大鼠之口服葡萄糖耐受性試驗，以六味地黃丸之降血醣及增加 insulin 分泌效果最佳；而在 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠之口服葡萄糖耐受性試驗，亦以六

味地黃丸之降血醣及增加 insulin 分泌效果效果最佳。顯示六味地黃丸可經由增加 insulin 分泌以促進血醣之再利用。另在學習前後，六味地黃丸及知柏地黃丸於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，可降低正常大鼠之血糖濃度；但明顯增加訓練後之血糖濃度。而補中益氣湯於 0.5 g/kg 連續口服兩週後，則可增加大鼠之血糖濃度及訓練後之血糖濃度。由此可知，六味地黃丸及知柏地黃丸可增強正常大鼠之學習操作能力及改善 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠之學習操作能力障礙，此作用於降低血糖濃度；增加學習過程之血糖使用有關。而補中益氣湯等增強正常大鼠之學習操作能力，則部分與增加學習過程之血糖使用有關。

事實上，Martinez 等之研究，發現 d-amphetamine 之增進智能作用可因靜脈注射神經毒素 6-OHDA 所造成之交感神經截斷或腎上腺切除而阻斷；而 d-amphetamine 之衍生物 4-OH-amphetamine 因無法通過腦血管障壁而僅具周邊作用之性質，亦具增進智能之作用且此作用可被神經毒素 6-OHDA 所阻斷；另如 nootropics 類藥物之增進智能作用亦可因腎上腺切除而阻斷；顯示周邊之交感神經及腎上腺應參與學習記憶過程而調節中樞神經系統對外界刺激的反應。另 Hall 及 Gold 之研究，指出腎上腺切除後所造成記憶能力衰退現象，與基礎血醣濃度有關，且與肝醣之分解及體內 glucose 之再使用有更密切之關係；且 Messier 等指出投與 glucose 可增加腦內乙醯膽鹼之合成，增強動物之學習操作能力及改善老年智能障礙現象；在其通過腦血管障壁後，可使腦內血醣濃度增加，增加腦內能量供給及神經傳遞物質合成如 hippocampus 區之乙醯膽鹼，活化腦內神經系統。因此智能增進劑可能經腎上腺周邊之接受器，增加腎上腺素或類固醇類荷爾蒙之分泌而作用，并進一步增加肝醣之再利用及腦內血醣之含量，使中樞內神經系統活化或基因之合成增加，以達增進智能或活化記憶能力之作用。綜合數年來在衛生署經費補助下，從事一系列補益類方劑於學習記憶之影響及機

制。發現補中益氣湯、歸脾湯、天王補心丹及六味地黃丸均具增強學習操作能力或改善藥物誘發學習記憶障礙之作用。其中，歸脾湯針對記憶鞏固之作用較佳，適用於各種原因之癡呆症，特別是血循環不良而致之記憶鞏固不佳者[26]；補中益氣湯針對學習獲得之作用較佳，適用於阿耳滋海默氏症，特別是胃腸吸收不良而致之虛弱、注憶力差、學習能力不佳者[27]；天王補心丹則對學習獲得障礙及記憶鞏固均佳[28]；六味地黃丸主要適用於體虛、腎虛而致之記憶鞏固不佳，但對學習能力不佳者亦有效。而在作用之神經機制上，補中益氣湯、歸脾湯、天王補心丹及六味地黃丸均可能與與增強中樞 cholinergic system 之活性及降低 serotonergic system 之活性有關；而六味地黃丸則主要與週邊系統之活化有較密切之關係。再依本成果可知，六味地黃丸主要與週邊系統活化以促進血醣之再利用有關，而補中益氣湯則與中樞乙醯膽鹼神經系統之活化及周邊系統之促進血醣再利用均有關；至於歸脾湯及天王補心丹則與中樞乙醯膽鹼神經系統之活化有關。

## 伍、結論與建議

一、 在衛生署經費補助下，從事一系列方劑對於學習記憶之影響歸脾湯針對記憶鞏固之作用較佳，適用於各種原因之癡呆症，特別是血循環不良而致之記憶鞏固不佳者；補中益氣湯針對學習獲得之作用較佳，適用於阿耳滋海默氏症，特別是胃腸吸收不良而致之虛弱、注憶力差、學習能力不佳者；天王補心丹則對學習獲得障礙及記憶鞏固均佳；而六味地黃丸主要適用於體虛、腎虛而致之記憶鞏固不佳，但對學習能力不佳者亦有效。

二、 補益類方劑於連續口服兩週後，均具增強正常大鼠於被動暨主動迴避反應之操作能力及改善藥物誘發學習記憶能力之作用；惟以六味地黃丸、補中益氣湯及天王補心丹之效果較佳。

三、 靜脈注射 streptozotocin 後 2~4 週，可增加大鼠之進食量、飲水量及排泄量，並使體重變輕、血糖升高。給予 streptozotocin 後 3 週誘發糖尿病之大鼠，誘發被動迴避反應操作障礙之成功率較低，而於主動迴避反應則可順利誘發操作能力障礙。

四、 補益類方劑(0.5 g/kg)於 streptozotocin 誘發糖尿病前連續口服兩週後，具預防 streptozotocin 誘發糖尿鼠主動迴避操作障礙之作用；其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。

五、 補益類方劑（0.5 g/kg）於 streptozotocin 誘發糖尿病一週後連續口服兩週後，具治療 streptozotocin 誘發糖尿病鼠於主動迴避反應操作障礙之作用；其中以六味地黃丸及補中益氣湯之效果較佳。

六、 口服葡萄糖耐受性試驗中，補益類方劑（0.5 g/kg）連續口服兩週後，對正常大鼠及 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠，以六味地黃丸之降血醣及增加 insulin 分泌效果最佳。顯示六味地黃丸可經由增加 insulin 分泌以促進血醣之再利用。

七、 在學習前後，六味地黃丸連續口服兩週後，可降低正常大鼠之血糖濃度；但明顯增加訓練後之血糖濃度。而補中益氣湯則可增加大鼠之血糖濃度及訓練後之血糖濃度。顯示六味地黃丸可增強正常大鼠之學習操作能力及改善 streptozotocin 誘發糖尿病大鼠之學習操作能力障礙，此作用於降低血糖濃度；增加學習過程之血糖使用有關。而補中益氣湯等增強正常大鼠之學習操作能力，則部分與增加學習過程之血糖使用有關。

八、 在衛生署經費補助下，從事一系列方劑對於學習記憶之影響歸脾湯針對記憶鞏固之作用較佳，適用於各種原因之癡呆症，特別是血循環不良而致之記憶鞏固不佳者；補中益氣湯針對學習獲得之作用較佳，適用於阿耳滋海默氏症，特別是胃腸吸收不良而致之虛弱、注憶力差、學習能力不佳者；

天王補心丹則對學習獲得障礙及記憶鞏固均佳；而六味地黃丸主要適用於體虛、腎虛而致之記憶鞏固不佳，但對學習能力不佳者亦有效。六味地黃丸主要與週邊系統活化以促進血醣之再利用有關，而補中益氣湯則與中樞乙醯膽鹼神經系統之活化及周邊系統之促進血醣再利用均有關；至於歸脾湯及天王補心丹則與中樞乙醯膽鹼神經系統之活化有關。

## 陸、參考文獻


1. Munch G, Thome J, Foley P, Schinzel R and P Riederer (1997) Advanced glycation endproducts in ageing and Alzheimer's disease. Brain Res Rev 23(1-2):134-143.
2. Miinch G, Schinzel R, Loske C, Wong A, Durany N, Li JJ, Vlassara H, Smith MA, Perry G and P Riederer (1998): Alzheimer's disease – synergistic effects of glucose deficit, oxidative stress and advanced glycation endproducts. J Neural Transm 105:439-461.
3. Crutcher KA, Anderton BH, Barger SW, Ohm TG and AD Snow (1993) Cellular and molecular pathology in Alzheimer's disease. Hippocampus 3:271-287.
4. Reaven GM, Thompson LW, Nahum D and E Haskins (1990) Relationship between hyperglycemia and cognitive function in older NIDDM patients. Diabetes Care 13:16-21.
5. Flood JF, Mooradian AD and JE Morley (1990) Characteristics of learning and memory in streptozotocin-induced diabetic mice. Diabetes 39:1391-1398.
6. Biessels GJ, Kamal A, Ramakers GM, Urban IJA, Spruijt BM, Erkelens DW and WH Gispen (1996) Place learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes 45:1259-1266.

7. Prickaerts J, Blokland A, Honig W, Meng F and J Jolles (1995) Spatial discrimination learning and choline acetyltransferase activity in streptozotocin-treated rats: effects of chronic treatment with acetyl-L-carnitine. Brain Res 674:142-146.

8. Biessels GJ, Kamal A, Urban IJA, Spruijt BM, Erkelens DW and WH Gispen (1998) Water maze learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: effects of insulin treatment. Brain Res 800:125-135.

9. Moos WH, Davis RS, Schwarz RD and ER Gamzu (1988) Cognition activators. Med Res Rev 8:353-391.

10. Wenk GL (1989) An hypothesis on the role of glucose in the mechanism of action of cognitive enhancers. Psychopharmacology 99:431-438.

11. Messier C, Durkin T, Mrabet O and C Destrade (1990) Memory-improving action of glucose: Indirect evidence for a facilitation of hippocampal acetylcholine synthesis. Behav Brain Res 39:135-143.

12. Davis, HP and LR Squire (1984) Protein synthesis and memory: A review. Psychol Bull 96:518.

13. 周慎（1993）老年性癡呆的用藥及組方規律探討。陝西中醫，14(8)：374-375。

14. 謝明村，孫樂珊，彭文煌，吳啟瑞（1995）補中益氣湯對單向抑制性被動避暗學習反應之影響。八十五年度行政院衛生署中醫藥委員會專題計畫成果報告。

15. 邵金鶯，張磊，許蜇（1990）十全大補湯、杞菊地黃湯和歸脾湯的一些藥理作用。中藥藥理與臨床，6(5)：4-5。

16. 於慶海，吳春福，莊麗萍（1992）歸脾湯實驗藥理研究。沈陽藥學院學報，

9(1)：41-45。

17. Hsieh MT, Wu CR, Tsai HY, Peng WH and CC Hsieh (1994) Effects of Gui-Pi-Tang on passive avoidance learning in rats. Chin Med Coll J 3(1):15-24.

18. 謝明村，吳啟瑞，劉淑鈴，闕甫予，洪啟賦（1997）天王補心丹對大白鼠被動迴避學習反應之影響。中國醫藥學院雜誌 6(2)：1-6。

19. Hsieh MT, Yeh FT, Chen HC, Lin NN, Chen CF and TF Wang (1988) Effects of Paweiwan on streptozotocin-induced hyperglycemia in rats. Proc Natl Sci Counc B ROC 12(2):109-113.

20. 謝明村，陳和昌，吳戊琳，黃維三（1989）知柏八味丸治療第Ⅱ型糖尿病之臨床評估。 中國醫藥學院研究年報 15：135-161。

21. Litchfield JT and F Wilcoxon (1949) A simplified method of elevating dose effect experiment. J Pharmacol Exp Ther 96:99-133, 1949.

22. Hsieh MT, Wu CR and CC Hsieh (1998) Ameliorating effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol on cycloheximide-induced impairment of passive avoidance response in rats: Interactions with compounds acting at 5-$HT_{1A}$ and 5-$HT_2$ receptors. Pharmacol Biochem Behav 60(2):337-343.

23. Ichihara K, Nabeshima T and T Kameyama (1988) Opposite effects induced by low and high doses of apomorphine on single-trial passive avoidance learning in mice. Pharmacol Biochem Behav 30:107-113.

24. Guillot E, Coste A, Eon MT and I Angel (1998) Mechanisms of the hypoglycemic effects of the $\alpha_2$-adrenoceptor antagonists SL84.0418 and deriglidole. Life Sci 62(9):839-852.

25. Hall JL and PE Gold PE (1990) Adrenalectomy-induced memory deficits: Role of plasma glucose levels. Physiol Behav 47:27-33.

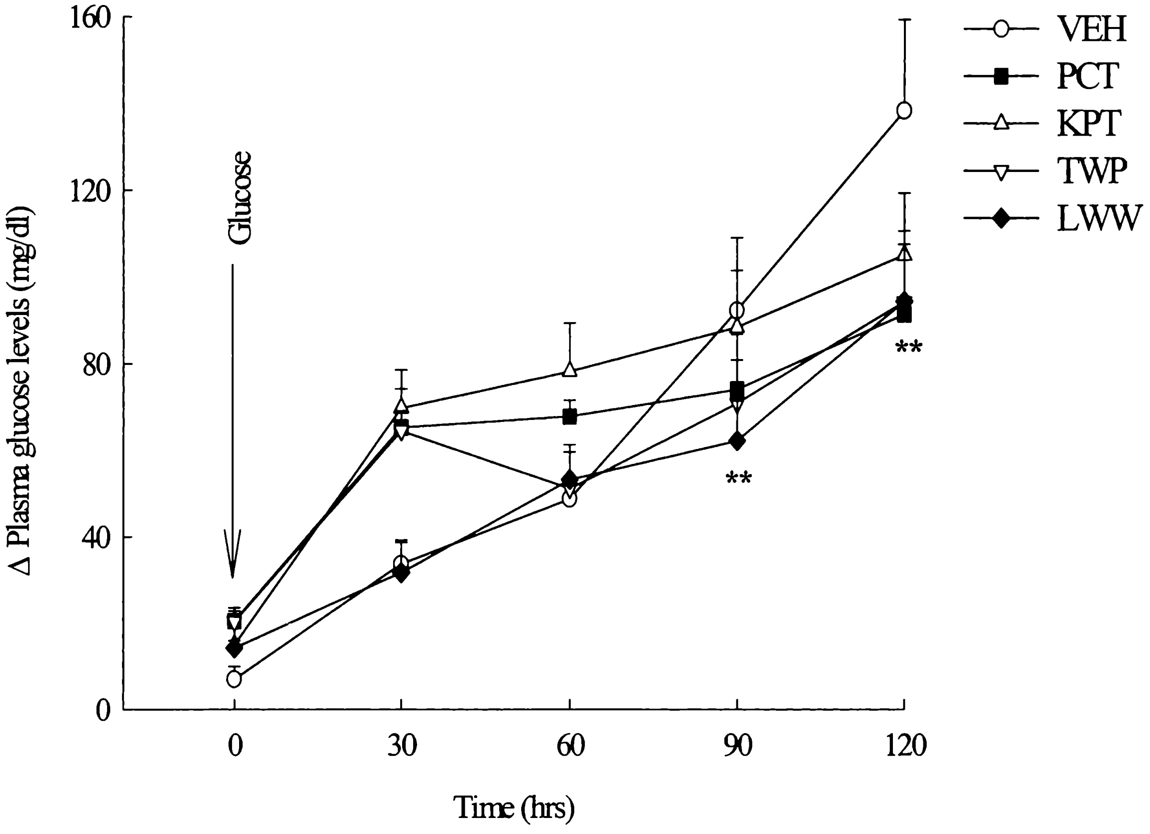
26. Nishino T, Kodira T, Shin S, Imagawa K, Shima K, Kumahara Y, Yanaihara C and N Yanaihara (1981) Glucagon radioimmunoassay with use of antiserum to glucagon C-terminal fragment. Clin Chem 27:1690-1697.

27. hnota H, Kitamura T, Kinukawa M, Hamano S, Shibata N, Miyata H and A Ujiie (1996) A rapid- and short-acting hypoglycemic agent KAD-1229 improves post-prandial hyperglycemia and diabetic complications in streptozotocin-induced non-insulin-dependent diabetes mellitus rats. Jpn J Pharmacol 71:315-323.

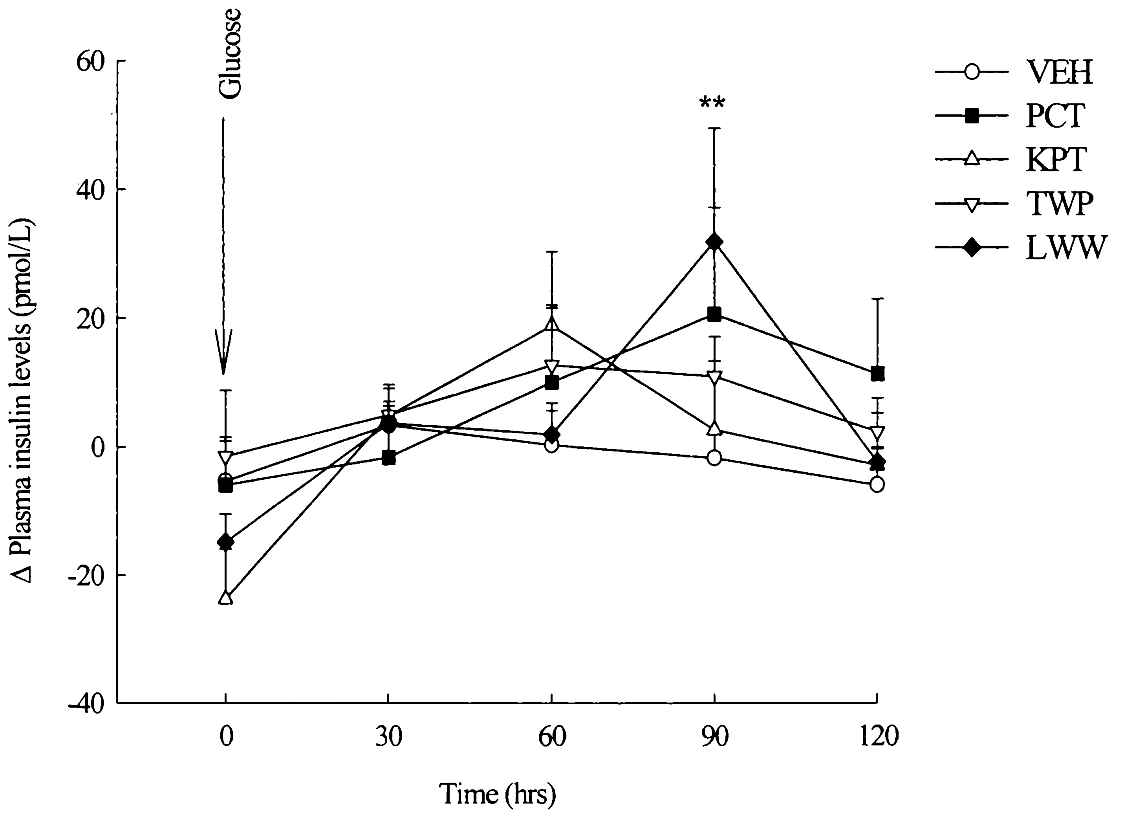
表一、補益劑（0.5 g/kg）連續口服兩週對東莨菪鹼誘發大鼠健忘症之作用

| 組別 | 口服劑量（g/kg） | 明室滯留時間（秒） |
|---|---|---|
| 正常組 | | ＞300 |
| 東莨菪鹼組 | | 17.2± 0.3 |
| 東莨菪鹼組加預防組 | | |
| 補中益氣湯組 | 0.1 | 16.5± 0.2 |
| | 0.5 | 183.6± 9.6*** |
| 歸脾湯 | 0.1 | 18.3± 2.3 |
| | 0.5 | 47.8± 4.0** |
| 天王補心丹 | 0.1 | 78.6± 5.1** |
| | 0.5 | 184.7± 17.8*** |
| 六味地黃丸 | 0.1 | 22.8± 6.2 |
| | 0.5 | 260.1± 26.9*** |
| 知柏地黃丸 | 0.1 | 36.8± 4.2* |
| | 0.5 | 142.5± 13.5*** |

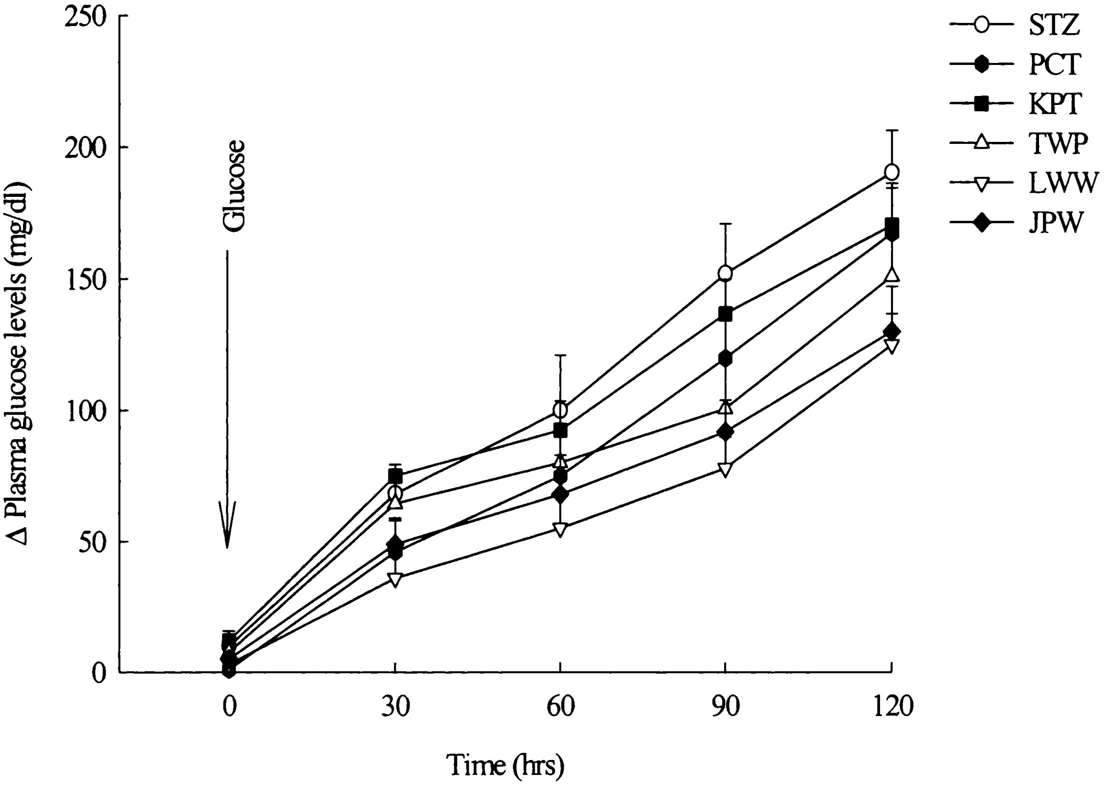
All data are described as Mean ±S.E., N=8, ** P<0.01, *** P<0.001 compared with 東莨菪鹼組.



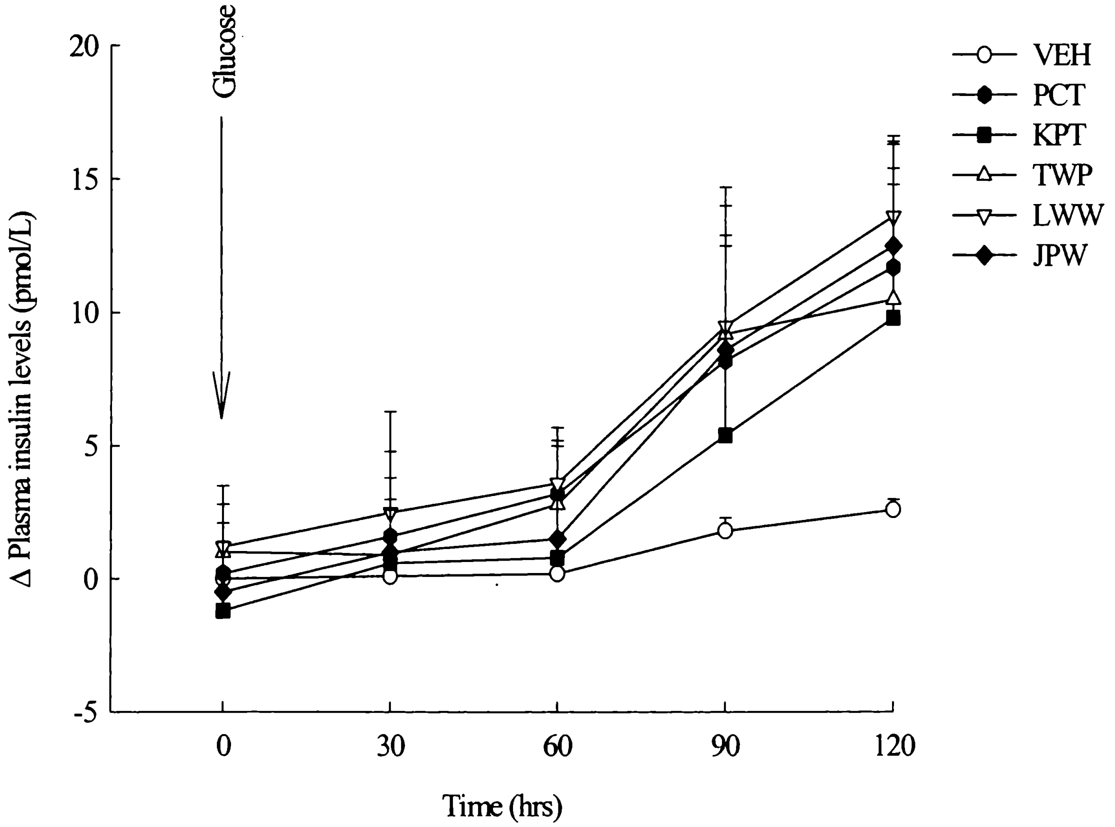

圖二、補益方劑（0.5 g/kg）連續口服兩週對正常大鼠口服葡萄糖耐受性之血醣變化影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8, ** P<0.01 compared with VEH.



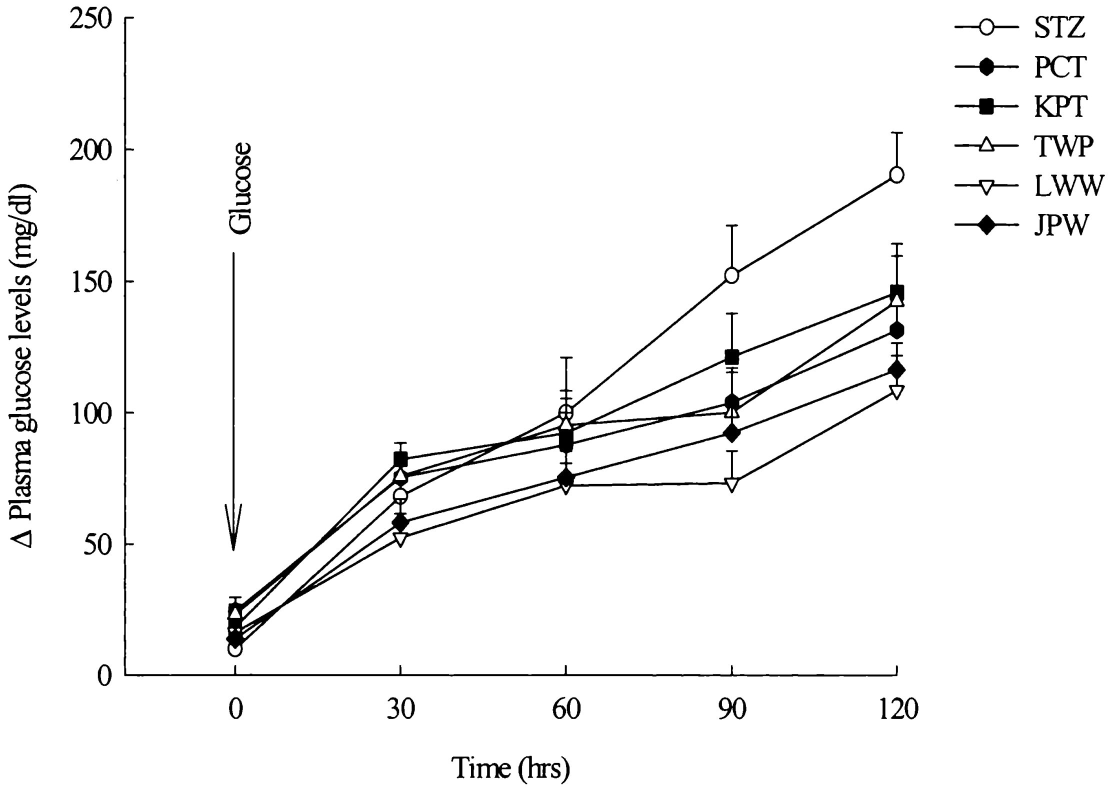

圖三、補益方劑（0.5 g/kg）連續口服兩週對正常大鼠口服葡萄糖耐受性之 Insulin 變化影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8, ** P<0.01 compared with VEH.



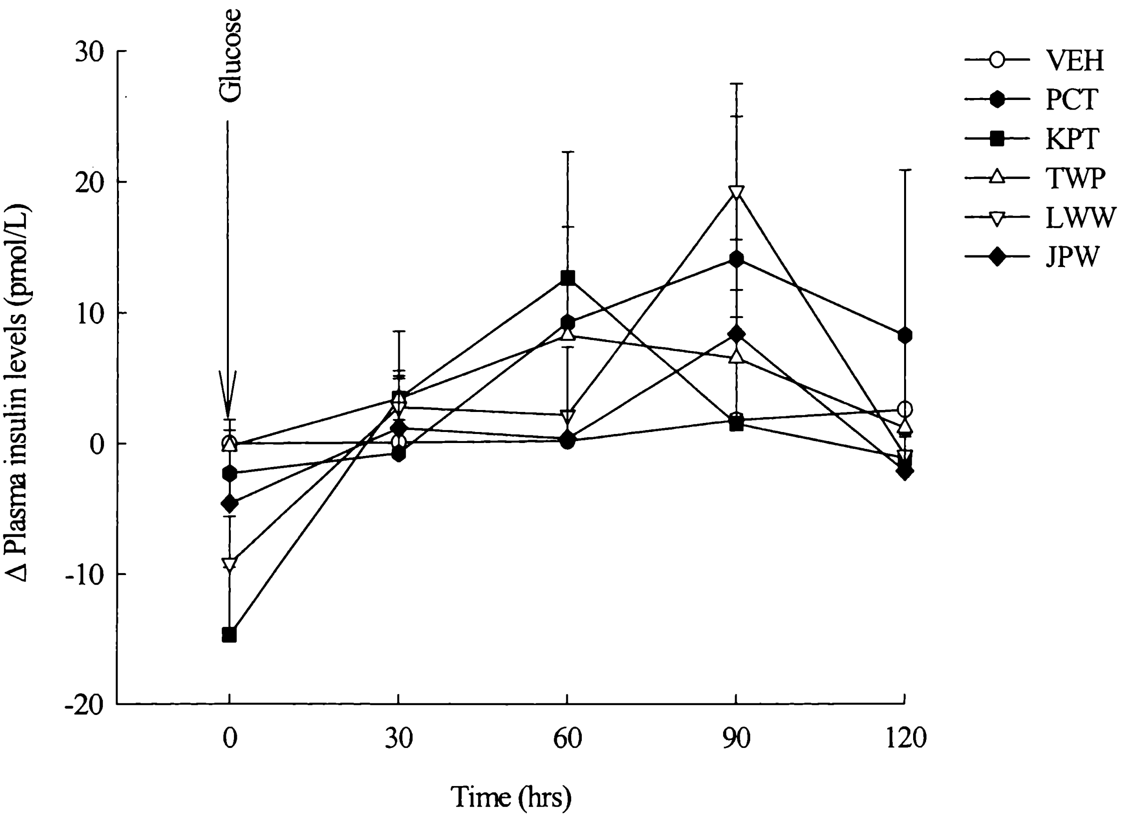

圖四、誘導前連續口服兩週補益方劑（0.5 g/kg）對 streptozotocin（65 mg/kg，i.v.）誘發糖尿病鼠口服葡萄糖耐受性之血醣變化影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8.



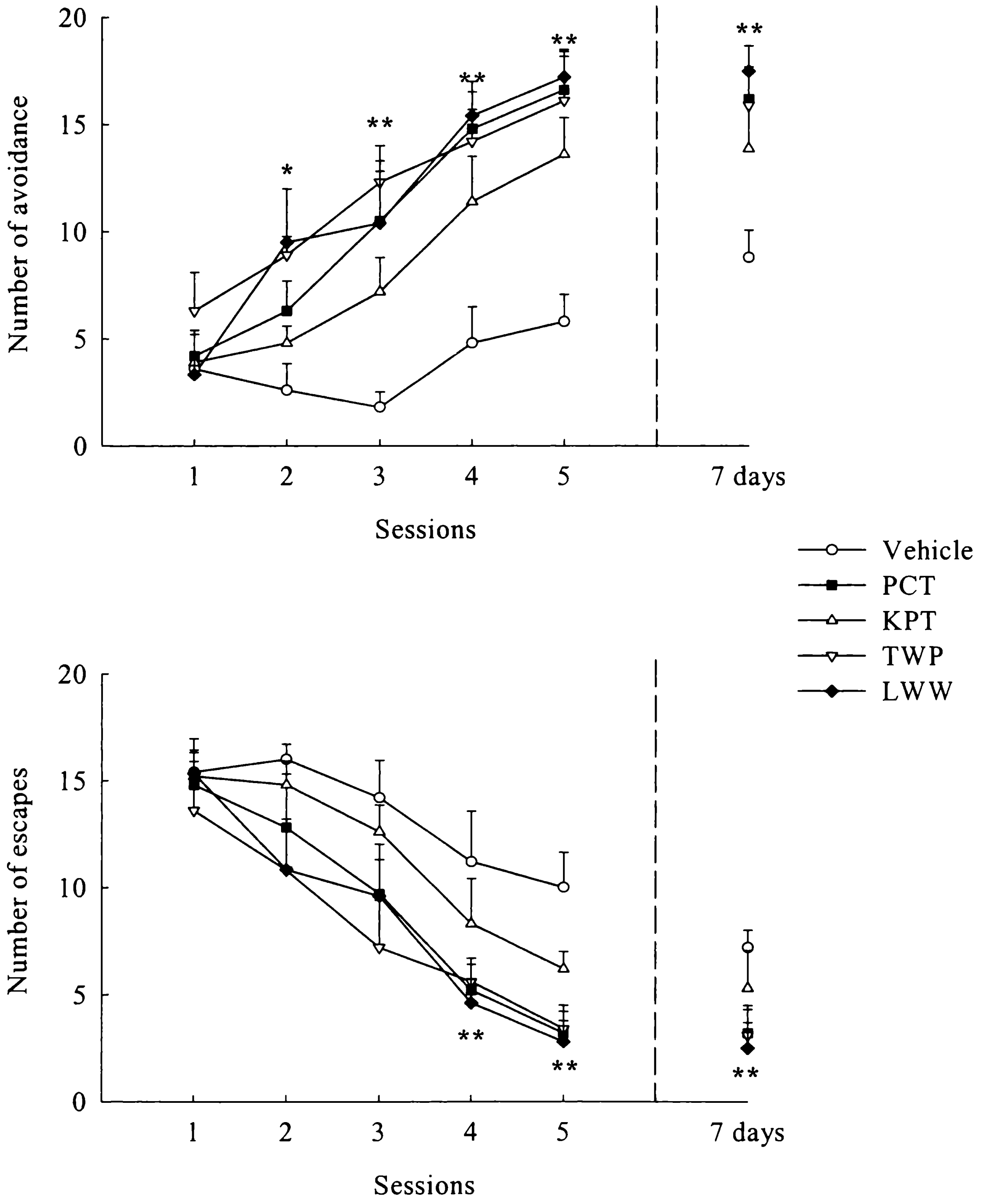

圖五、誘導前連續口服兩週補益方劑（0.5 g/kg）對 streptozotocin（65 mg/kg，i.v.）誘發糖尿病鼠口服葡萄糖耐受性之 insulin 變化影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8.



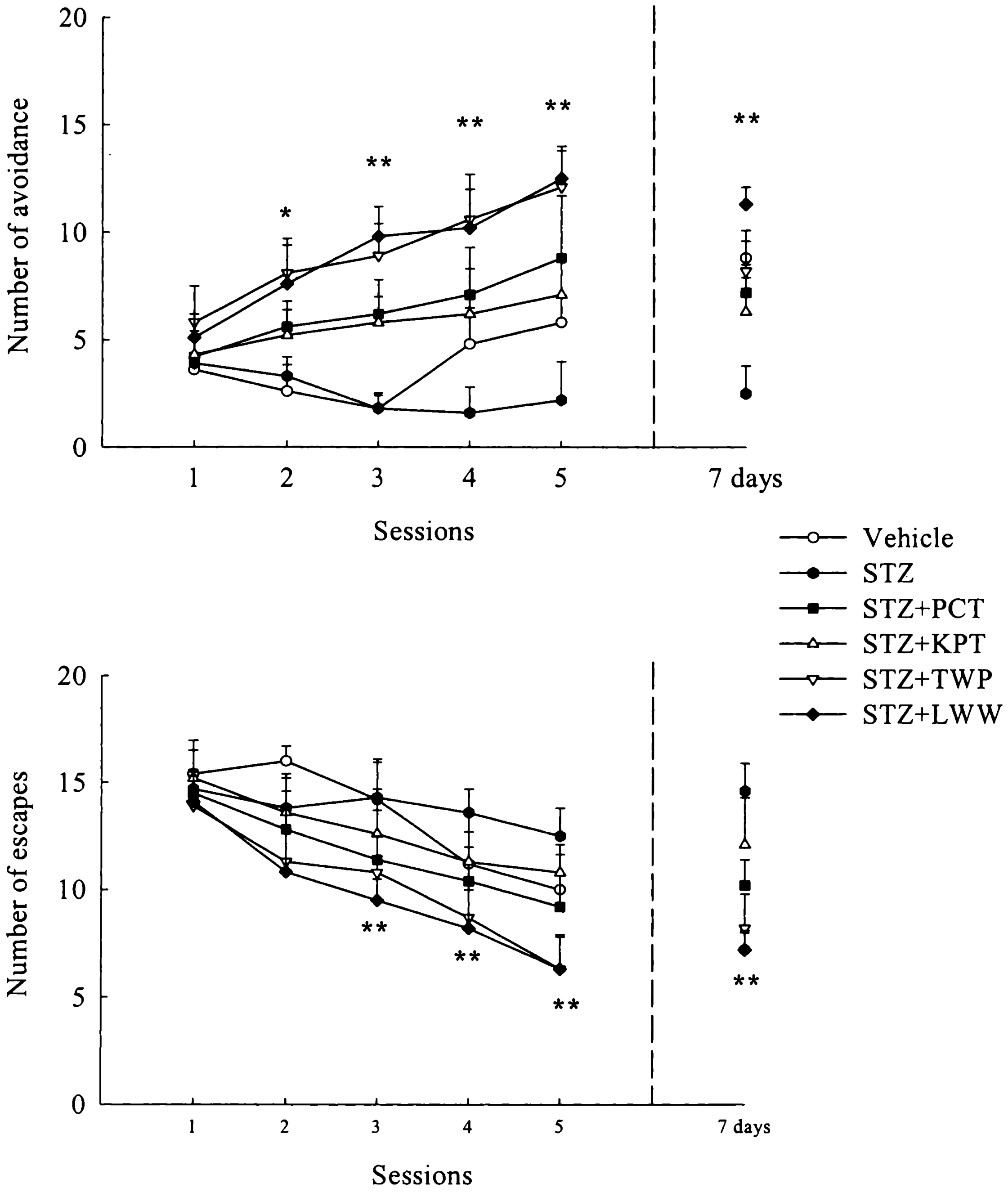

圖六、誘導後一週連續口服兩週補益方劑（0.5 g/kg）對 streptozotocin（65 mg/kg，i.v.）誘發糖尿病鼠口服葡萄糖耐受性之血醣變化影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8, ** P<0.01 compared with VEH.



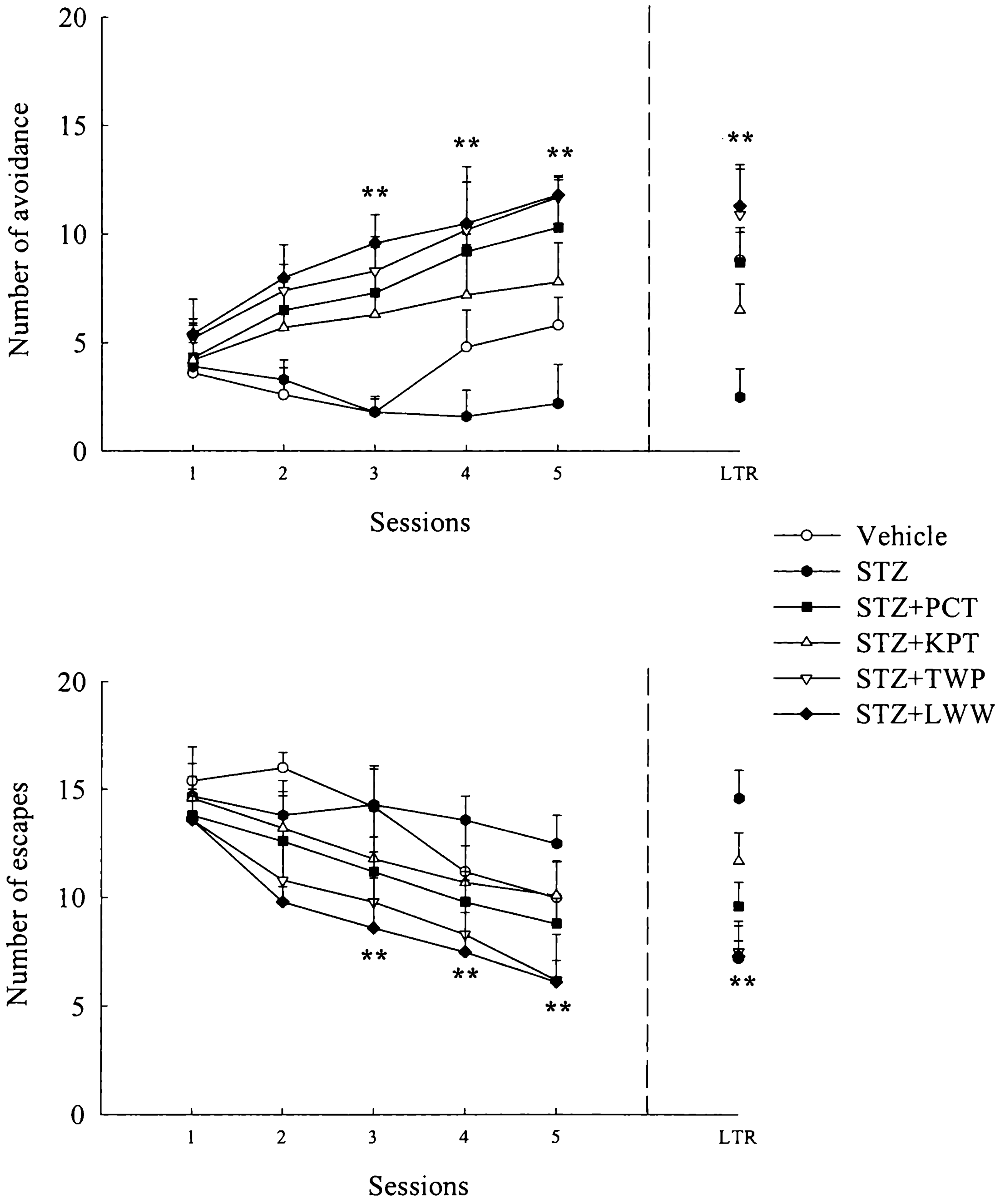

圖七、誘導後一週連續口服兩週補益方劑（0.5 g/kg）對 streptozotocin（65 mg/kg，i.v.）誘發糖尿病鼠口服葡萄糖耐受性之 insulin 變化影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8.




圖八、補益方劑（0.5 g/kg）連續口服兩週對大鼠主動迴避學習反應之影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8, ** P<0.01 compared with Vehicle.




圖九、誘導前連續口服兩週補益方劑（0.5 g/kg）對 streptozotocin（65 mg/kg，i.v.）誘發主動迴避學習障礙之影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8, ** P<0.01 compared with STZ.




圖十、誘導後一週連續口服兩週補益方劑（0.5 g/kg）對 streptozotocin（65 mg/kg，i.v.）誘發主動迴避學習障礙之影響。VEH：正常組、PCT：補中益氣湯組、KPT：歸脾湯組、TWP：天王補心丹組、LWW：六味地黃丸組。All data are described as Mean ±S.E., N=8, ** P<0.01 compared with STZ.

表二、補益類方劑（0.5 g/kg）於給藥前後暨學習前後對正常大鼠及 streptozotocin 誘發糖尿病鼠血醣變化之影響

| | 給藥前後 | | | 學習前後 |
|---|---|---|---|---|
| | 正常組 | 糖尿病組 | | 正常組 |
| | | 預防組 | 治療組 | |
| 控制組 | 0.3±3.1 | 231.7±42.2# | 242.8±37.5# | 14.0±3.7 |
| 補中益氣湯 | 7.0±2.6* | 224.3±58.9 | 247.1±46.9 | 30.0±4.9* |
| 歸脾湯 | 4.5±4.9 | 257.2±39.6 | 241.6±47.7 | 21.2±3.7 |
| 天王補心丹 | 6.2±3.5 | 197.0±34.8 | 178.2±52.6 | 28.1±4.3* |
| 六味地黃丸 | -7.7±5.6* | 125.4±31.4* | 138.7±28.7* | 32.0±5.6* |
| 知柏地黃丸 | -2.5±2.2* | 118.2±29.6* | 132.5±33.9* | 27.0±5.4* |

All data are described as Mean ±S.E., N=8, * P<0.05 compared with 控制組. # P<0.05, compared with 正常組.